3. Козлов В.Е. Аллергены для диагностики туберкулеза: совершенствование производства и стандартизация: Автореф. дис. … докт. биол. наук: 03.00.23, 16.00.03/ Козлов В.Е.; Федеральное государственное учреждение «Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов». М., 2007. 43 с.
4. OIE Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals. Fifth Edition. 2004. Vol. 1. P. 723.

А.В. Бокарев, А.А. Стекольников, Е.А. Лаковников, М.Д. Спыну, О.Н. Суворов, Е.С. Соломатова
Санкт-петербургская академия ветеринарной медицины

ЦИТОМОРФОЛОГИЯ ВОСПАЛЕНИЙ ДИСТАЛЬНЫХ ОТДЕЛОВ КОНЕЧНОСТЕЙ У СОБАК (МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ)

Введение

Воспалительные заболевания в области пальцев и пясти (плюсны) у собак являются актуальной проблемой ветеринарной медицины. Характерной чертой проблемы является то, что воспаления данной локализации имеют склонность к хроническому течению с выраженной тенденцией к альтерации и экссудации (Рис. 1-а), а так же чрезвычайную устойчивость к традиционным средствам и методам медикаментозной терапии. Большая часть подобных воспалений (за исключением травм), по-видимому, носит идиопатический характер, т.е. их этиология не поддается определению.

Склонность к хроническому течению и отсутствие этиотропной терапии приводят к тому, что воспалительные процессы тканей в области пальцев у собак могут приобретать тяжелое, порой злокачественное течение, вследствие чего процесс воспаления не ограничивается только зоной первичной альтерации, но приобретает способность распространяться на близлежащие ткани, в том числе на костную ткань, суставы и сухожилья (Рис. 1-б, в). Пораженные ткани впоследствии могут замещаться грубой фиброзной тканью (Рис. 1-г), что в лучшем случае приводит к потере животным его экстерьерных качеств, а в худшем к необратимым нарушениям опорной функции конечности.

Поскольку, как уже было сказано выше, общего этиологического фактора для воспаления данной локализации не выявлено, а анализ анамнестических данных свидетельствует о том, что этих факторов может быть множество, как экзогенного так и эндогенного происхождения, следует принять допущение, что особенности течения воспаления данной локализации обусловлены не универсальным свойством фактора, вызывающего повреждение, а особенность цитохимического механизма самого воспалительного процесса.

Материалы и методы

1 – материал для исследования получен от 37 взрослых собак разных пород, находящихся на лечении в связи с поражениями пальцев и пясти (плюсны) воспалительного характера.

2 – препараты изготовлены методом мазков–отпечатков с участков поражения.

3 – Полученные препараты фиксировали в метаноле и окрашивали: для обычной обзорной светооптической микроскопии – красителем «Дифквик», для исследования уровня экспрессии аргентофильных белков – азотнокислым серебром по протоколу 10.2 [1], для люминесцентной микроскопии – акридиновым оранжевым.

4 – Исследование полученных препаратов проводили методом светооптической и флуоресцентной микроскопии на микроскопе «ЛЮМАМ И-1».

5 – Микрофотографирование изображений полученных цитологических препаратов проводили при помощи цифровой камеры «Micrometrics 300 CU».

6 – Документирование и обработку полученных изображений проводили на персональном компьютере при помощи программы «ScopePhoto 2.0.4»

Результаты исследования



Рис. 1 Внешний вид воспалительных заболеваний в области пальцев и пясти (плюсны) у собак.
а – макроскопическая картина альтеративно-экссудативного воспаления мягких тканей пальцев у «немецкого дога», б – рентгенограмма остеомиелита дистальной фаланги пальца у собаки породы «боксер», в - тендовагинит сгибателей пальцев у собаки породы «немецкая овчарка», г – хроническое продуктивное воспаление с деформацией пальцев у у собаки породы «немецкая овчарка».

Анализ цитологического состава воспалительного экссудата показал, что в очагах острого процесса (Рис 2-а, б, в) превалируют нейтрофильные лейкоциты с высоким содержанием в ядре аргентофильных белков (Рис 2-б(1)) без признаков конденсации хроматина (Рис 2-в(1)). Среди клеточных элементов имеется незначительное количество неактивированных макрофагов, имеющих в ядре слабовыраженные аргентофильные (Рис 2-б(2)) гранулы и низкое содержание рибонуклеопротеидов в цитоплазме (Рис 2-в(2)), а также в небольшом количестве неактивированные лимфоциты, отличающиеся от моноцитов и неактивированых макрофагов периферийным расположением аргентофильных гранул в ядре (Рис. 2–б(3)).

При подостром воспалительном процессе (Рис 2-г, д, ж) количество макрофагов в экссудате увеличивается. Появляются их многоядерные формы и макрофаги фагоцитирующие нейтрофилы (Рис. 2-г(2)). В их ядрах возрастает количество аргентофильного материала (Рис.2-д(2)), а в цитоплазме количество рибонуклеопротеидов окрашиваемых АО в красно-оранжевый цвет (Рис. 2-ж(2)). Содержание аргентофильных белков в ядре нейтрофильных лейкоцитов остается неизменным (Рис.2-д(1)). Однако усиление яркости зеленого свечения хроматина при окраски АО (Рис.2-ж(1)) свидетельствует об усилении его конденсации.

Хроническое воспаление (Рис 2-з, и, л) характеризуется еще большим увеличе-

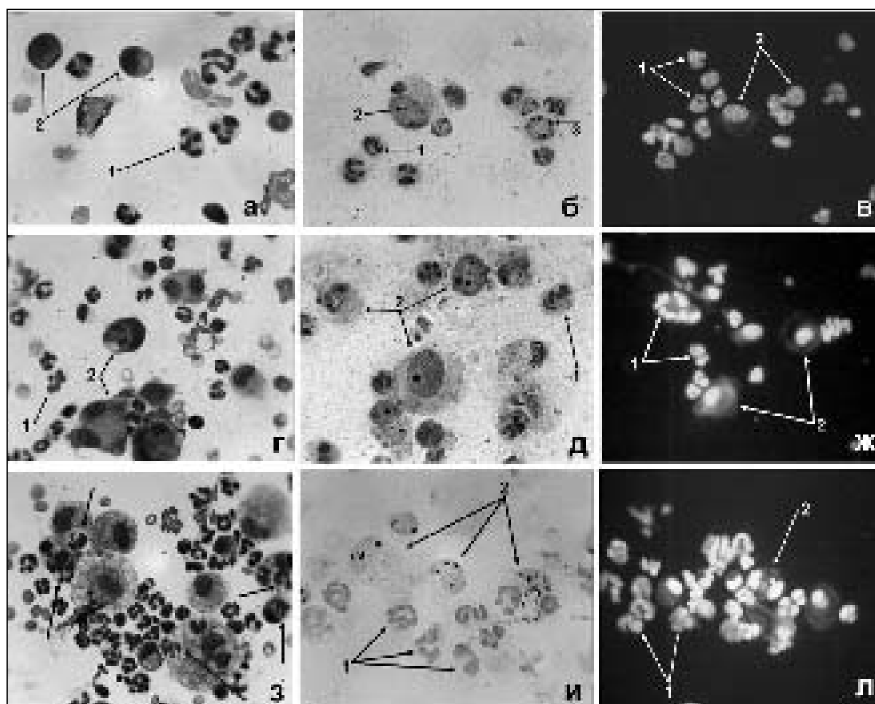


Рис. 2. Клеточный состав экссудата при воспалительных заболеваниях в области пальцев и пясти (плюсны) у собак.
а, б, в – острое (до 1 недели) течение заболевания. г, д, ж – подострое (2 - 3 недели) течение. з, и, к – хроническое (более 1 месяца) течение. а, г, з Окраска «Дифквик», (Ч900 иммерсия). б, д, и – импрегнация серебром (Ч1450 иммерсия). в, ж, л – люминесцентная микроскопия, окраска акридиновым оранжевым (Ч650). 1-нейтрофильные лейкоциты. 2-макрофаги. 3-лимфоциты. Пояснения в тексте.

нием количества макрофагов в экссудате, а так же изменением их морфологии. Макрофаги увеличиваются в размерах, их цитоплазма приобретает пенистый вид. Почти каждый макрофаг содержит по одному или несколько фагоцитированных нейтрофилов (Рис 2-з(2)). Количество аргентофильных гранул в ядрах макрофагов, в том числе макрофагов с фагосомами, увеличивается, но уменьшается количество дисперсного аргентофильного материала в ядрах и цитоплазме (Рис 2-и(2)). В ядрах нейтрофильных лейкоцитов значительно уменьшается количество дисперсного аргентофильного материала и практически полностью исчезают аргентофильные гранулы (Рис 2-и(1)).

Количество рибонуклеопротеидов в цитоплазме макрофагов остается высоким (Рис. 2-л(2)). Интенсивность яркости зеленого свечения хроматина при окраске АО у одних нейтрофилов остается высокой. У других сравнима с интенсивностью свечения хроматина нейтрофилов из очага острого воспаления, но нитевидность ее структуры практически полностью исчезает (Рис 2-л(1)).

Обсуждение полученых результатов

Как показали результаты исследования, при хронизации воспаления в области дистальных отделов конечностей у собак происходят как количественные, так и качественные цитоморфологические изменения среди клеточных элементов экссудата. Сегментоядерный профиль экссудата, характерного для острого воспаления (2), постепенно становится макрофагальным. Причем метаболическая активность макрофагов повышается. В ядре макрофагов увеличивается количество районов ЯОР, а в цитоплазме количество РНК. Цитоплазма МФ становиться пенистой и менее хроматофильной, что свидетельствует об активном экзоцитозе. Макрофаги значительно увеличиваются в размерах, и их фагоцитарная активность в отношении НФ возрастает. В то же время, количество нейтрофильных лейкоцитов в очаге воспаления уменьшается, а их метаболическая активность падает. В ядрах НФ исчезает арген-

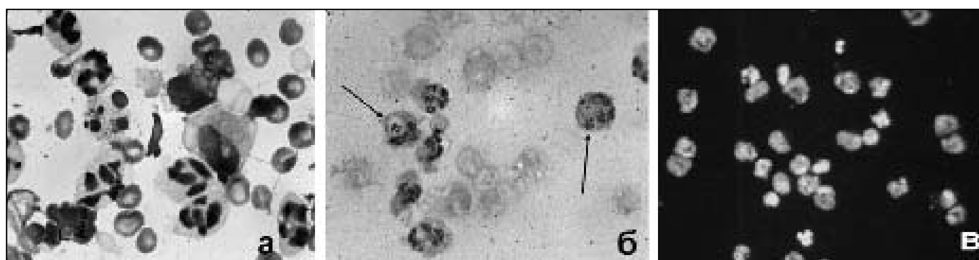


Рис. 3. Цитоморфология экссудата при хронической пиодермии у собаки породы «немецкая овчарка». а – окраска «Дифквик», (х900 иммерсия). б – импрегнация серебром (х1450 иммерсия). в – люминесцентная микроскопия, окраска акридиновым оранжевым (х650). Пояснения в тексте.

тофильный материал, а хроматин теряет типичную нитевидную структуру и становиться гомогенным.

Следует особенно отметить, что морфологическая картина хронического воспаления в области дистальных отделов конечностей у собак отличается от хронической пиодермии, при которой в воспалительном экссудате доминируют функционально активные нейтрофилы (Рис. 3-а), в которых визуализируется фагоцитированная пиогенная микрофлора, высокое содержание аргентофильного материала в ядре (Рис. 3-б) и нитевидная неповрежденная структура хроматина (Рис. 3-в).

Таким образом, основные отличительные особенности воспаления дистальных отделов конечностей у собак, как то: хроническое воспаление, нарушение репаративной регенерации и резистентность к общепринятым методам лечения, связаны с повышенной метаболической и функциональной активностью моноцитарно-макрофогального состава экссудата. Вероятно, в случаях хронического воспаления дистальных отделов конечностей у собак возникает патология, сравнимая с так называемой длительно незаживающей раной (ДНР) [3].

С точки зрения патогенетической терапии ДНР, крайне важно иметь в виду, что воспалительные и активированные макрофаги (в отличие от резидентных) синтезируют и экскретируют различные протеиназы [2, 3]. Именно протеиназы деструктируют внеклеточный матрикс соединительной ткани (ВКМ), (продукт деятельности фибробластов) основная роль которого состоит в том, чтобы отграничить воспалительный очаг от здоровой ткани или заместить его. Нарушение реализации репаративной регенерации и демаркации зоны воспаления, в свою очередь, приводит к склонности местного процесса к распространению и манифестации.

Современные методы лечения ДНР направлены на разрыв «порочного круга», существующего в ДНР, и активизацию нормальных репаративных процессов. Доминирующее терапевтическое значение в этом играет нейтрализация патологического действия протеолитических ферментов что достигается использованием соответствующих ингибиторов и прежде всего таких их фармакологических форм как трисалол, контрикал, гордокс.

Выводы

1 – Хронизация воспаления дистальных отделов конечностей у собак обусловлена возрастанием метаболической и функциональной активности макрофагов экссудата.

2 – Хроническое воспаление дистальных отделов конечностей у собак протекает по механизму длительно незаживающей раны (ДНР), ведущим фактором патогенеза при которой выступают макрофагальные протеиназы разрушающие ВКМ, что и обусловливает хронизацию и генерализацию процесса.

3 – В комплексе лечения хронического воспаления дистальных отделов конечностей у собак необходимо использовать ингибиторы протеолитических ферментов.

РЕЗЮМЕ

Исследованы количественные и качественные характеристики клеток экссудата при воспалении дистальных отделов конечностей у собак. Определили, что при хронизации воспаления возрастает как метаболическая, так и функциональная активность макрофагов. Возрастает их фагоцитарная активность, и способность к экзоцитозу, а также увеличивается количество районов ядрышковых организаторов (ЯОР) в ядре и рибонуклеиновой кислоты (РНК) в цитоплазме. Сделан вывод, что хроническое воспаление дистальных отделов конечностей у собак развивается по механизму длительно незаживающей раны (ДНР) при которой одним из основных патогенетических механизмов являются протеолиз внеклеточного матрикса (ВКМ) соединительной ткани. На основе морфологи-

ческого материала доказана необходимость применения ингибиторов протеолитических ферментов для лечения хронических воспалений дистальных отделов конечностей у собак.

SUMMARY
Quantitative and qualitative characteristics of cells exudation are investigated at an inflammation of fingers and metacarpus (metatarsus) at dogs. The given researches have shown, that when the inflammation to become chronic metabolic and functional activity of macrophages grows. Grows phagocytic activity of macrophages, and their ability to exocytosis. Also the quantity of argyrophil nucleolar organizer regions (AgNORs) in a nucleus and ribonucleic acid (RNA) in cytoplasm increases. The conclusion is made, that the chronic inflammation fingers and metacarpus (metatarsus) at dogs develops on the mechanism is long not healing wound (LNW) at which one of the basic pathogenetic mechanisms are enzymic hydrolysis a protein extracellular skeleton of a connecting fabric. Thus, on the basis of a morphological material, necessity of application inhibitors proteolitic enzymes for treatment of chronic inflammations fingers and metacarpus (metatarsus) at dogs is proved.

Литература

1. Крокер Джен. Районы ядрышкового организатора и фибриллярные центры. Молекулярная клиническая диагностика (Методы). Под редакцией С. Херрингстона и Дж. Макги. Москва. Мир. 1999 год. Стр. 260-279.
2. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. Новосибирск. «Наука». Сибирское отделение. 1989 год. 329 стр.
3. Федоров Д.Н., Ивашкин А.Н., Шинин В.В., Васильев А.В., Иванов А.А. Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика репаративных процессов в длительно не заживающих ранах. Архив патологии. Том 64., № 1., 2002 год., стр. 8–11.
4. Pascal Roussel and Daniile Hernandez-Verdun. Identification of Ag-NOR Proteins, Markers of Proliferation Related to Ribosomal Gene Activity. Experimental Cell Research. Volume 214, Issue 2, October 1994, Pages 465-472.

В.С. Бузлама, И.В. Трутаев, С.В. Шабунин
Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии

ВЛИЯНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ОЛИГОПЕПТИДОВ НА АДАПТАЦИОННЫЕ СПОСОБНОСТИ И ВЫНОСЛИВОСТЬ ОРГАНИЗМА

Рядом исследований и широкой практикой показано, что современные технологии получения, выращивания и использования высокопродуктивных животных носят стрессогенный характер. Это усугубляется постоянно нарастающим противоречием между высокой продуктивностью и низкой сопротивляемостью организма, особенно высококлассных, элитных особей, пород, линий, кроссов. В итоге возникают, приобретая массовое распространение стрессовые дезадаптации, при воздействии патогенной и условно-патогенной микрофлоры, гиподинамии, недостаточности кислорода, субклинических интоксикаций и других факторов, перерастающих в нозологически дифференцируемую патологию: с охватом более 50,0% поголовья, болезни системы органов размножения (метриты, маститы, субинволюция матки и др.) коров, свиноматок, желудочно-кишечные (диареи, колибактериоз, сальмонеллёз, дизентерия и др.) и респираторные (в основном инфекционные) болезни телят, поросят, цыплят (Шахов А.Г., 1997).

Возникла актуальность расширения арсенала ветеринарных фармакологических средств, снижающих стрессовые дезадаптации, повышающих выносливость, сопротивляемость при изменяющихся условиях и неблагоприятных воздействиях внешней среды. Известно, что и пластика и энергетика не оказывают на этот процесс большого влияния. Главное в нарушении регуляторных механизмов. А здесь олигопептиды практически управляют всем организмом. Учитывая эти посылки, изучено влияние тимогена, неогена и седатина на адаптогенные способности и выносливость организма при иммобилизационном стрессе, как классической модели (от Г. Селье) воспроизведения общего адаптационного синдрома.

Иммобилизационный стресс.

Опыты проведены на белых крысах-самцах линии Wistar, со средней массой тела 180,0±20,0 г. В процессе иммобилизации в помещении поддерживали постоянную температуру 20–22° С. Животных за 15-